

**Zur Frage der Typendifferenzierung von
Tuberkelbakterien
auf rattenbluthaltigen Nährböden**

Hans Buschmann

Aus dem Tierhygienischen Institut der Universität München
Vorstand: Professor Dr. A. Meyn

ZUR FRAGE DER TYPENDIFFERENZIERUNG VON TUBERKELBAKTERIEN
AUF RATTENBLUTHALTIGEN NÄHRBÖDEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig Maximilians-Universität
München

von
Hans Buschmann
aus Ingolstadt

München 1959



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. K. Zipf

Referent: Professor Dr. A. Meyn

Tag der Promotion: 27. Februar 1959

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite:
I. Einleitung	1
II. Literatur und Schrifttum	2
A. Die Typen des Tuberkuloseerregers	2
1. Die Typendifferenzierung auf morpho- gischem Wege	3
2. Die Typendifferenzierung durch den Tierversuch	4
3. Die kulturelle Typendifferenzierung	5
a) Allgemeines zur kulturellen Tuberku- lose-Diagnostik	5
b) Der Kulturversuch und Typendifferenzie- rung der Tuberkelbakterien	7
B. Bluthaltige Nährböden bei der Kultur und Typen- differenzierung der Tuberkelbakterien	10
III. Eigene Untersuchungen	14
A. Material und Methodik	14
1. Die Tuberkelbakterienstämme	14
2. Die Herstellung der Blutnährböden	15
3. Die Beimpfung der Blutnährböden	16
B. Untersuchungsergebnisse	17
C. Diskussion der Ergebnisse	31
IV. Zusammenfassung	35
V. Literaturverzeichnis	36
Lebenslauf	41

I. EINLEITUNG

Die Differenzierung von Menschen-, Rinder- und Geflügeltuberkelbakterien ist heute immer noch ein wissenschaftliches Problem von ganz besonderer Bedeutung. Erst als man in die Lage kam, diese Differenzierung vorzunehmen, wurde auch erkannt, welch große Rolle der Rindertuberkulose für die Ätiologie der menschlichen Tuberkulose, speziell beim Kleinkind, zukommt.

Nun ist die Typendifferenzierung des *Mycobacterium tuberculosis* aber eine zeitraubende und komplizierte Arbeit, die auch entsprechend hohe Kosten verursacht. Es hat daher auch nie an Versuchen gefehlt, die Methodik der Typenbestimmung zu vereinfachen. Entscheidende Fortschritte sind dabei aber nicht erzielt worden. In jüngerer Zeit haben französische Autoren, deren Ergebnisse auch in Deutschland einmal nachgeprüft und bestätigt werden konnten, ein neues, relativ einfaches und zeitsparendes Verfahren zur kulturellen Typendifferenzierung mittels Rattenblut-Nährböden gefunden.

Herr Professor Dr. Meyn hat mir die Aufgabe gestellt, das Wachstum der verschiedenen Tuberkelbakterientypen auf Blutnährböden zu beobachten und insbesondere einen Beitrag zur Frage der Typendifferenzierung auf rattenbluthaltigen Nährböden zu leisten.

II. LITERATUR UND SCHRIFTTUM

A. Die Typen des Tuberkuloseerregers

Nach der Entdeckung des Erregers der Tuberkulose im Jahre 1882 durch Robert Koch (28) herrschte zunächst die Ansicht, daß es nur einen Erreger der menschlichen und tierischen Tuberkulose gäbe, nämlich das Bakterium Koch. Bereits zwei Jahre später wiesen jedoch Nocard, Roux, Rivolta, Mafucci, Straus u. a. (24) auf Unterschiede zwischen dem Erreger der Säugetier- und Vogeltuberkulose hin und forderten eine Abtrennung des Erregers der Vogeltuberkulose von den übrigen Warmblütertuberkelbakterien. Auch Weber, Bofinger, Koch und Rabinowitsch (24) gelang es in ihren Experimenten, den Erreger der Vogeltuberkulose durch abweichendes Verhalten in der Kultur und im Tierversuch von den übrigen Tuberkuloseerregern abzusondern; im Tierversuch zeigte der Erreger der Vogeltuberkulose eine hohe Pathogenität gegenüber Kaninchen und Hühnern, war jedoch nicht pathogen gegenüber Meerschweinchen. Andererseits erwiesen sich die Warmblütertuberkelbakterien als nicht pathogen für Hühner, obwohl sie hochpathogen für das Meerschweinchen waren.

Erst viele Jahre später gelang es auch, die Typen der Säugetiertuberkelbakterien zu differenzieren. Zwar hatten Chauveau, Günther, Harms, Bollinger und Dammann (12) schon vor der Entdeckung der Tuberkelbakterien durch R. Koch festgestellt, daß Kälber, Schweine und Ziegen nur an Tuberkulose erkrankten, wenn sie mit Milch und Lungenstücken von perlsüchtigen Rindern gefüttert wurden, nicht dagegen, wenn die Fütterung mit tuberkulösem menschlichem Material erfolgte, doch deutete man diese und andere Beobachtungen als natürliche Variabilitäten ein und desselben Erregers. 1868 stellte Villemin und 1880 Baumgarten (12) eine verschiedene Pathogenität von tuberkulösem Material für das Kaninchen fest, je nachdem ob das Material vom Menschen oder Rind stammte. Theobald Smith (12) war 1898 der erste, der auf Grund morphologischer, kultureller und tierpathogener Unterschiede den Erreger der menschlichen Tuberkulose von dem Erreger der Perlsucht des Rindes abtrennte. Auf Grund dieser Erkenntnisse unternahm dann R. Koch zusammen mit Schütz von der Berliner Tierärztlichen Hochschule weitere Versuche an Rindern. Rinder erwiesen sich als hochempfindlich für das Bakterium der Rindertuberkulose, blieben jedoch unempfindlich für den Erreger der menschlichen Tuberkulose (12). Im Jahre 1901 trat R. Koch (12) auf dem Londoner Tuberkulosekongreß mit der Ansicht vor die wissenschaftliche Öffentlichkeit, "daß die menschliche Tuberkulose von der Rindertuberkulose verschieden ist, und daß die menschliche Tuberkulose auf das Rind nicht übertragen werden kann". Gleich-

zeitig verkündete er die Ungefährlichkeit der Rindertuberkulose für den Menschen und schloß sich dem Vorschlag von Kossel, Weber und Heuß (24) an, von einem *Bacterium tuberculosis*, Typus humanus und Typus bovinus zu sprechen. Als zuverlässiges Unterscheidungsmerkmal beider Typen empfahl R. Koch den Rinderinfektionsversuch. Diese grundlegenden Erkenntnisse R. Kochs wurden durch spätere Untersuchungen nur zum Teil bestätigt. Widerlegt wurde vor allem die Auffassung von der Unschädlichkeit der Rindertuberkulose für den Menschen.

In der Folgezeit konnten auch Stämme beobachtet werden, die entweder bei der Kultur auf den verschiedenartigen Nährmedien oder in ihrem Verhalten beim Tierversuch eine Zwischenstellung zwischen humanem und bovinem Typ einnahmen (17, 21, 37). Diese Stämme stellten die Systematik vor die grundsätzliche Frage, ob es sich bei den Rinder- und Menschentuberkelbakterien um wandelbare Standortvarianten einer Art oder um zwei wohldefinierte Typen mit konstanten Eigenschaften handelte (24). Untersuchungen von K. A. Jensen (24) führten zum interessanten Ergebnis, daß bovine Tuberkelbakterien durch langes Verweilen im menschlichen Körper eine Wandlung ihrer charakteristischen Typenmerkmale durchmachen können. Das deutet auf eine gewisse Labilität dieser Merkmale hin. 1949 wies Hornung (17) darauf hin, daß wahrscheinlich viel häufiger als bisher angenommen wurde Mischinfektionen mit beiden Typen vorkommen; bei der kulturellen Untersuchung wird dann oft der eine Typ vom anderen überwuchert und der Nachweis des gleichzeitigen Vorkommens gelingt nur noch bei Anwendung subtiler Methoden (z. B. Einzelkulturen). Vielleicht bietet die Tatsache der Mischinfektion eine Erklärung für manche Unklarheiten bei der Typendifferenzierung.

Die moderne Systematik trennt das Geflügeltuberkulosebakterium als selbständige Art *Mycobacterium avium* von den Erregern der Säugetiertuberkulose ab, die Variationen der Art *Mycobacterium tuberculosis* darstellen: *Mycobacterium* var. *hominis* und *Mycobacterium tuberculosis* var. *bovis*. Die Unterscheidung dieser drei Formen ist im allgemeinen auf dreierlei Art und Weise möglich: morphologisch, im Tierversuch und kulturell. Mit Hilfe serologischer Methoden ist dagegen eine Typentrennung nicht möglich.

1. Die Typendifferenzierung auf morphologischem Wege

Die morphologischen Unterschiede zwischen dem Typus bovinus und Typus humanus sind nicht charakteristisch. Die Bakterien des Typus humanus werden im allgemeinen zwar als schmale und schlanke Stäbchen von gleichmäßiger Form und Färbung beschrieben, während beim Typus bovinus kurze, plumpe und ei-

förmige Stäbchen, die den Farbstoff ungleichmäßig aufnehmen, überwiegen sollen (37). Eine zuverlässige Typendifferenzierung auf morphologischem oder färbischem Wege ist aber nicht möglich.

2. Die Typendifferenzierung durch den Tierversuch

Der Tierversuch spielte für die Typendifferenzierung seit den Anfängen der Tuberkuloseforschung die entscheidende Rolle. Das abweichende tierpathogene Verhalten von Säugetier- und Vogeltuberkelbakterien war bereits der ausschlaggebende Grund für die Abtrennung des Typus gallinaceus des Tuberkelbakterium von den übrigen Tuberkuloseerregern durch Weber, Bofinger, Koch und Rabinowitsch (24) gewesen. Das für Säugetiertuberkelbakterien hochempfindliche Meerschweinchen hatte sich als immun gegen den Erreger der Vogeltuberkulose erwiesen, der dagegen leicht auf Kaninchen und die für Säugetiertuberkelbakterien unempfindlichen Hühner übertragen werden konnte. Als 18 Jahre nach der Entdeckung des Erregers der Tuberkulose die Unterscheidung zwischen einem Typus humanus und Typus bovinus des Säugetiertuberkelbakterium erfolgte, war es zunächst wieder der Tierversuch, der diese Differenzierung ermöglichte. Koch und Schütz (24) empfahlen zur Typendiagnose den Infektionsversuch an Rindern, die sich als hochempfindlich gegenüber dem Typus bovinus und unempfindlich gegenüber dem Typus humanus des Tuberkelbakterium erwiesen hatten. Koch (24) hat jedoch damals schon als Ersatz für das Rind auch den Kaninchenversuch zur Typendifferenzierung vorgeschlagen. Bei den ersten Untersuchungen der deutschen und englischen Tuberkulosekommission (19) wurde zur Typendifferenzierung die verschiedene Pathogenität der Säugetiertuberkelbakterien gegenüber Kälbern, Kaninchen und Meerschweinchen verwertet. Gerade der Kaninchenversuch hat sich in den folgenden Jahren auch außerordentlich zuverlässig für die Typendifferenzierung erwiesen. Hierzu wurden einem Kaninchen 10 mg einer jungen Tuberkelbakterienkultur subkutan appliziert.

Handelte es sich um einen bovinen Stamm, so kam es zu einer generalisierten Form der Tuberkulose, das Kaninchen verlor ständig an Gewicht und der Tod stellte sich innerhalb von 3 - 4 Monaten ein. Bei der Sektion fand man tuberkulöse Prozesse besonders in den Lungen, Nieren und den regionären Lymphknoten, häufig auch in Milz und Leber. Handelte es sich um einen humanen Stamm, so kam es zu keiner generalisierten Form der Tuberkulose, es stellte sich kein Gewichtsverlust ein und bei der Sektion fand man höchstens einzelne fibröse Knoten an den Rückenpartien der Lunge und einen lokalen Abszeß wechselnder Größe ohne Reaktion der regionären Lymphknoten (19).

Mitunter wird der Wert des Kaninchenversuchs allerdings eingeschränkt durch die Tatsache, daß manche Stämme in ihrer Virulenz gegenüber dem Kaninchen

eine Zwischenstellung zwischen bovinem und humanem Typ einnehmen (17). Ferner bilden individuelle Schwankungen in der Empfindlichkeit der Kaninchen einen nicht zu übersehenden Unsicherheitsfaktor. H. Braun (4) warnte 1937 davor, die Ergebnisse des Tierversuchs allein für die Typenbestimmung zu verwenden: "Das kulturelle Verhalten ist für die Typisierung wichtiger als die Virulenzprüfung. Wenn man sich auf diese ohne Bezugnahme auf das Kulturelle Verhalten verließ, würden Irrtümer vorkommen". Deshalb und wegen der Langwierigkeit und Kostspieligkeit des Tierversuchs ist man auch stets bestrebt gewesen, kulturelle Methoden zu entwickeln, die eine raschere und billigere Typendifferenzierung ermöglichen.

3. Die kulturelle Typendifferenzierung

a) Allgemeines zur kulturellen Tuberkulose-Diagnostik

In seiner ersten Veröffentlichung über die Ätiologie der Tuberkulose im Jahre 1882 beschäftigte sich R. Koch eingehend mit der Kultur der Tuberkelbakterien und beschrieb ihre Ausführung folgendermaßen (zit. nach 11): "Serum von Rinder- und Schafblut wird 6 Tage hindurch täglich eine Stunde lang auf 58°C erwärmt. Durch dieses Verfahren gelingt es in den meisten Fällen, das Serum vollkommen zu sterilisieren. Dann wird es auf 65°C mehrere Stunden hindurch und zwar so lange erwärmt, bis es eben erstarrt und fest geworden ist. Die Tuberkulosebazillen lassen sich auch noch auf anderen Nährsubstraten kultivieren. So wachsen sie beispielsweise auf einer mit Agar-Agar bereiteten Gallerte, welche einen Zusatz von Fleischinfus und Pepton erhalten hat. Das Blutserum von verschiedenen Tierarten zeigte sowohl im erstarrten als im flüssigen Zustand keine wesentlichen Unterschiede in der Fähigkeit, den Tuberkelbazillen als Nährboden zu dienen. Am besten scheinen sie allerdings auf Hammel-, Rinder- und Kälberserum zu gedeihen. Aber auch das Serum von Pferde- und Schweineblut gibt recht kräftige Kulturen. Sogar auf dem Serum von Hundeblood wuchsen die Kulturen nicht merklich schlechter, obwohl doch diese Tierspezies gegen Tuberkulose ziemlich resistent ist". Diese Methode wies aber infolge der großen Verunreinigungsgefahr der Kulturen, der unzureichenden Sterilisierung der Nährböden und der Verunreinigung des Impfmateri als mit Fremdkeimen viele Nachteile auf.

Einen wesentlichen Fortschritt in der Kultur der Tuberkelbakterien bedeutete es, als 1886 Nocard und Roux (11, 24, 16) einen Zusatz von 6 - 8 % Glycerin zum Kochschen Serum empfahlen. Das Glycerin bildete einen wesentlichen Nährstoff für den Tuberkelbazillus, die Kulturen wuchsen rascher, trockneten nicht so schnell aus, und es kam nicht zu der schon von R. Koch gefürchteten

"Salzhaut". 1888 führte der Russe Pawlowsky (11) die seit Schröter in der Bakteriologie bekannte Kartoffel auch in die Tuberkelbakterienzüchtung ein. Auf Kartoffelscheiben, die in sodaalkalischem Glycerinwasser gekocht worden waren, erhielt Anzilotti (11) schon am 4. bis 5. Tag sichtbare, am 15. Tag üppige Kulturen. Es war das Verdienst des Heidelberger Physiologen W. Kühne (11) nachzuweisen, daß eine Züchtung von Tuberkelbakterien auf eiweiß- bzw. peptonfreien Nährlösungen möglich war. Das Tuberkelbakterium erwies sich in seinen Anforderungen an das Kulturmedium als gar nicht so anspruchsvoll, wie es bisher geschildert worden war. Diese Feststellungen veranlaßten Proskauer und Beck (11) zu ihren Untersuchungen über die Ernährungsphysiologie der Tuberkelbakterien; sie führten Aschenanalysen durch und fahndeten nach einem Nährmedium, das vorwiegend aus anorganischen Substanzen bestand.

1896 gebrauchte Achille Capaldi (11) aus Neapel als erster das Hühnerei für die Tuberkelbakterienzüchtung; er berichtete, daß auf seinem Lezithinnähragar die Tuberkelbakterien ausgezeichnet wuchsen. Der von Capaldi eingeschlagene Weg führte Dorset (11) 1902 zur Entwicklung eines Einährbodens aus koaguliertem Ei und Lubenau (11) arbeitete mit einem Nährboden, der aus einer koagulierten Mischung gleicher Teile Eigelb und Glycerinbouillon bestand. C. Siebert (11) stellte bei seinen Kulturversuchen fest, daß die Humankulturen mehr Glycerin benötigten als die Bovinuskulturen. Neuere Untersuchungen von Rislakki-Svanberg, Witte und Meyn (24) ergaben dann auch, daß es sich hierbei geradezu um ein Typenmerkmal der Tuberkelbakterien handelte: während die Menschen- und Geflügeltuberkelbakterien ausgesprochen glyzerinophil sind, hemmt im Gegensatz dazu Glycerin die Entwicklung des Typus bovinus.

Der große Nachteil, der dem Kulturverfahren in der Diagnostik immer noch anhaftete, war die Verunreinigung des Untersuchungsmaterials mit Begleitbakterien. Diese Keime waren in der Lage, den ganzen Nährboden in kurzer Zeit zu überwuchern und die Tuberkelbakterien nicht zur Entwicklung kommen zu lassen. Um zu einem brauchbaren Ausgangsmaterial für die Beimpfung von Kultur Nährböden zu gelangen, empfahl R. Koch (16), der kulturellen Züchtung eine Tierpassage durch Meerschweinchen vorangehen zu lassen. Dies komplizierte natürlich die praktische Anwendung des Kulturverfahrens außerordentlich. War andererseits die Beimpfung der Nährmedien gelungen, so fiel ein erheblicher Teil der Kulturen im Verlaufe der wochenlangen Bebrütungsdauer immer noch aus, weil Schimmelpilze und Fremdkeime Zeit genug fanden, aus der Brut-schrankluft in die Kulturröhrchen einzudringen. Dieses Problem versuchte Petroff (11) zu lösen, indem er seinem Kalbfleischnährboden im Verhältnis 1:10000 Gentianaviolett zusetzte; G. Petragani (11) verwendete 1926 einen

anderen Farbstoff der Triphenylreihe, nämlich das Malachitgrün, in einer Konzentration von 1:4000 als Zusatz bei seinem Nährboden, bestehend aus Vollmilch, Pepton, Glycerin und Kartoffel. Auf diese Weise gelang es, die Sicherheit der Eikultur ganz wesentlich zu erhöhen. Endgültig setzte sich das Kulturverfahren in der diagnostischen Tuberkelbakterienzüchtung aber erst durch, als es gelang, ein von Begleitkeimen sauberes Untersuchungsgut zu erhalten. Dies glückte Uhlenhuth (16) bei Sputumuntersuchungen durch Vorbehandlung mit Antiformin, Spengler (16) mit Formalin und Twort (16) mit Erikolin. Von noch größerer Bedeutung waren die Arbeiten von Löwenstein und Sumiyoshi (16), die zeigen konnten, daß Tuberkelbakterien eine ausgesprochene Resistenz gegen Basen und Säuren besaßen. Sie behandelten das Untersuchungsgut mit Schwefelsäure, Salzsäure, Milchsäure oder Natronlauge und erhielten aus so vorbehandeltem Material Reinkulturen der Tuberkelbakterien.

b) Der Kulturversuch und Typendifferenzierung der Tuberkelbakterien

Das abweichende Verhalten der Geflügeltuberkelbakterien führte zuerst zur Abtrennung des Typus gallinaceus von den übrigen Säugetiertuberkelbakterien durch Nocard und Roux 1887 (24). Auf festen Nährböden wuchsen Geflügeltuberkelbakterien schon nach 6 - 8 Tagen, auf Glycerinagar bildeten sie einen schmierigen Belag, der sich leicht mit der Platinöse abstreifen und gleichmäßig mit Flüssigkeiten mischen ließ. Die Säugetiertuberkelbakterien dagegen bildeten trockene Wuchsformen, die nur schwer mit einer Öse abstreifbar waren und sich in einer Flüssigkeit nur ungleichmäßig verteilen ließen. Bei der Kultur in Glycerinbouillon bildeten die Geflügeltuberkelbakterien eine dicke Haut auf der Oberfläche, wuchsen aber auch am Boden des Kulturgefäßes, was darauf hindeutete, daß ihr Sauerstoffbedarf geringer war als der der Säugetiertuberkelbakterien (37).

Als erster war es dann Theobald Smith (24), der auf gewisse unterschiedliche Erscheinungen im Wachstumsmodus zwischen humanen und bovinen Stämmen auf verschiedenen Nährsubstraten hinwies. 1904 haben dann Kossel, Weber und Heuß (24) die charakteristischen Kulturmerkmale beider Säugetiertuberkelbakterientypen so treffend beschrieben, daß eine Typendifferenzierung auf den damals gebräuchlichen Nährböden möglich war. Als typisch sahen sie an das rasche und üppige Wachstum frischer Kulturen des Typus humanus und das langsame und spärliche Wachstum frischer Kulturen des Typus bovinus (24). A. S. Griffith (19, 24) bezeichnete als eugonisch solche Stämme, die auf glyzerinhaltigen Nährböden, z.B. Eiersubstraten, Glycerinkartoffel, Bouillon, sowie erstarrtem Kälberserum, schnell und kräftig in runzeligen und unregelmäßigen Kolonien oder dicken, faltigen Häutchen wuchsen. Als dysgonisch bezeichnete er Stämme, die auf denselben Substraten langsam und schlecht wuch-

sen, während die meisten von ihnen auf glyzerinfreien Substraten besser gediehen. Griffith (19, 24) war der Meinung, daß alle Stämme, die eugonisch wuchsen und im Verlaufe der Kultur ein gelbes Pigment bildeten, zum humanen Typ gehörten, während die dysgonischen Stämme, die kein Pigment bildeten, zum bovinen Typ gehörten. Bereits Griffith wies jedoch schon auf gewisse Fehlerquellen bei der Anwendung dieses Schemas hin. Einmal können gelegentlich auch dysgonisch wachsende humane Stämme vorkommen, andererseits ist eine sichere Typendifferenzierung nur an frisch isolierten Kulturen möglich, weil mit zunehmender Dauer der Züchtung auch bovine Typen ein eugonisches Wachstum erkennen lassen.

Das Schema zur Typendifferenzierung nach Griffith lautete (zit. nach 19):

1. Eugonisches Wachstum + Pigment: Humane Stämme
(Prüfung auf Kaninchenpathogenität kann unterbleiben)

2. Dysgonisches Wachstum:

bovine Stämme; pathogen für Kaninchen,
bilden kein Pigment.

"attenuated bovine"-Stämme; selten, für Kaninchen und
Meerschweinchen nur schwach virulent,
bilden kein Pigment.

humane Stämme; selten, sind für Kaninchen nicht pathogen,
erzeugen bei Impfung auf Meerschweinchen
typische Tuberkulose, bilden Pigment.

Meyn (24) variierte dieses Schema wie folgt:

Typus humanus: Üppiges (eugonisches), trocken-krümeliges,
gelbliches Wachstum. Später Pigmentbildung.
Erste Kolonien nach 2 - 3 Wochen sichtbar.
Die Stämme wachsen auf den glyzerinhaltigen
Nährböden wesentlich besser als auf den
glyzerinfreien.

Typus bovinus: Zartes (dysgonisches), feuchtglänzendes,
hellgelbes Wachstum. Keine Pigmentbildung.
Erste Kolonien nach 4 - 8 Wochen sichtbar.
Die große Mehrzahl der Stämme wächst in
der Eikultur auf den glyzerinhaltigen Nährbö-
den schlechter als auf den glyzerinfreien.

Typus gallinaceus: Gutes (eugonisches), feuchtglänzendes Wachs-

tum. Einzelkolonien kugelig, später Ringbildung. Erste Kolonien nach 2 - 5 Wochen sichtbar. Die Stämme wachsen auf glyzerinhaltigen Nährböden besser als auf glyzerinfreien.

Mit Hilfe dieses Schemas und der modernen Nährböden nach Löwenstein, Hohn und Petraggiani kann in der überwiegenden Zahl der Fälle eine Typendifferenzierung der Tuberkelbakterien vorgenommen werden. Nur in Ausnahmefällen wird auf den Tierversuch zurückgegriffen (37, 19).

Einen weiteren Fortschritt brachte der Bromkresolpurpur-Nährboden nach Wagener und Mitscherlich (21, 25). Hierbei werden nicht nur kulturmorphologische Unterschiede zwischen humanem und bovinem Typ zur Typendifferenzierung herangezogen, sondern eine ernährungsphysiologische Eigenschaft, nämlich die, daß Glyzerin unter Säurebildung vom Typus humanus in weit höherem Maße verwertet wird als vom Typus bovinus. Als Indikator dient Bromkresolpurpur, ein Farbstoff, der im alkalischen Bereich violett und im sauren Bereich gelblichgrün ist. So bewirkt der Typus humanus auf diesem Nährboden einen Farbumschlag von violett nach gelbgrün, während Kulturen des Typus bovinus die violette Farbe des Nährbodens kaum verändern.

Altavogt und Kuckheim (1) erzielten mit einem Nährboden, der aus Hirnextrakt, Lockemanns "Lösung D", Bromkresolpurpur und Bromthymolblau als Indikatoren, Serum-Albumin-Plasma, Kartoffelmehl und Agar besteht, ein um 20 % höheres Typendifferenzierungsergebnis und schnelleres Wachstum als mit dem Nährboden nach Wagener und Mitscherlich. Mehrere Jahre alte Stämme könnten aber auch mit diesem Nährboden nicht mehr differenziert werden.

Ein weiteres Merkmal zur Typendifferenzierung, das sogenannte "Kletterphänomen", stellten Wagener, Thiel und Hensel (36) heraus. Wenn der Feuchtigkeitgehalt in den Kulturröhrchen am Boden genügend groß ist, wachsen der Typus humanus sowie Geflügeltuberkelbakterien an der Glaswand des Kulturgefäßes empor. Dem Typus bovinus fehlt dieses "Kletterphänomen".

Eine neue Möglichkeit der Typendifferenzierung soll heute bereits an der Universität Gent praktisch angewendet werden (35). Dabei geht man von der Erscheinung aus, daß der Typus humanus durch Streptomycin stark beeinflussbar ist, während der Typus bovinus kaum und das *Mycobacterium avium* nur schwach vom Streptomycin gehemmt werden. Zur Typendifferenzierung wird das Untersuchungsgut mit Streptomycin behandelt und das Wachstum der Stämme dann beobachtet.

B. Bluthaltige Nährböden bei der Kultur und Typendifferenzierung der Tuberkelbakterien

Die Anforderungen, die an einen für die Züchtung von Tuberkelbakterien vorgesehenen Nährboden gestellt werden müssen, sind recht mannigfaltig:

1. Er soll die Fähigkeit besitzen, aus kleinen Mengen des Ausgangsmaterials, in dem die Tuberkelbakterien nur in relativ geringen Mengen vorhanden sind, ein Wachstum der Keime zu ermöglichen.
2. Dieses Wachstum soll in möglichst kurzer Zeit stattfinden und deutlich wahrnehmbar sein.
3. Das morphologische Aussehen der Kolonien soll so sein, daß eine einfache Differenzierung der säurefesten Bakterien erfolgen kann.
4. Der Nährboden soll das Wachstum von verunreinigenden Keimen verhindern.
5. Der Nährboden soll einfach und wirtschaftlich in der Herstellung sein.

Allen Forderungen entspricht bis heute keines der gebräuchlichen Medien. In letzter Zeit ist jedoch die Züchtung von Tuberkelbakterien auf Blutnährböden wieder in den Mittelpunkt der Diskussion gerückt, und besonders aus Amerika wird über hervorragende Ergebnisse in der Züchtung von Tuberkelbakterien auf Blutnährböden berichtet.

Nachdem bereits Robert Koch (11) für die Kultur von Tuberkelbakterien Blut und Serum von verschiedenen Tierarten verwendet hatte, war es um die Züchtung des Tuberkuloseerregers auf Blutnährböden still geworden, und das Interesse galt weit mehr der Entwicklung der Eiernährböden. Recht vereinzelt steht eine Mitteilung von Sick (29) da, der 1912 die Technik der sterilen Blutentnahme beim Menschen beschrieb und die Herstellung von Blut-Glyzerin-Agar zur Züchtung von Tuberkelbakterien angab. Sicks-Schrägagar-Nährböden enthielten einen 20 - 25 %igen Blutzusatz und einen Glyzeringehalt von 3 %. Das Wachstum der Stämme zeigte die für den Typus humanus und den Typus bovinus charakteristischen Unterschiede. Hohn (14, 11, 27) setzte seinem "Z-Nährboden" Hämoglobin hinzu und betonte dessen Wichtigkeit; er bezeichnete den Typus bovinus sogar als "hämatophil". Im Gegensatz dazu hielt Löwenstein (22) das Hämoglobin wegen seiner Sauerstoffbindungsfähigkeit für wachstumsschädlich. Mishulow (33) empfahl den Gebrauch von Bordet-Gengou-Nährmedien mit einem Zusatz von 25 % Pferdeblut als ein Hauptdiagnostikum für die Tuberkelbakterienzüchtung. 1947 beschrieben Dunphy und Fousek (33) ein flüssiges Nährmedium, das menschliches Zitratblut und Glyzerin enthielt und sich als sehr wertvoll für die schnelle Kultivierung von Tuberkelbakterien erwies. Um

die Wiedereinführung der Blutnährböden in die Tuberkulosedagnostik besonders verdient gemacht haben sich Tarshis und Frisch (33). Sie beobachteten, daß ein großer Teil der menschlichen Tuberkelbakterienstämme auf Tryptose-Agar oder Bordet-Gengou-Medium mit einem Zusatz von Blut genau so gut wuchs wie auf den viel komplizierteren Standard-Kulturmedien. Bordet-Gengou-Agar mit Zitratblut oder defibriniertem Blut unterstützte das Wachstum geringer Zahlen von Tuberkelbakterien beträchtlich mehr als die zum Vergleich verwandten Nährböden nach Petagnani und Löwenstein. Der nutritive Wert des Blutes war offensichtlich größer als der von Eigelb. Auf Menschenblutnährböden wurden die Kolonien oft schon am 6. Tag sichtbar, besonders wenn stark beimpft worden war. Als außerordentlich vorteilhaft für eine frühzeitige Diagnose erwies sich der deutliche Kontrast der kleinen, grauen, leuchtenden Kolonien gegenüber dem dunklen Untergrund des Blutnährbodens. Die Autoren stellten fest, daß schon 5 % Blutzusatz das Wachstum einiger Stämme deutlich verstärkte und ein Blutzusatz von 25 % optimale Ergebnisse lieferte. Der hemmende Effekt eines 3 %igen Glycerinzusatzes allein oder in Kombination mit Malachitgrün wurde durch eine höhere Blutkonzentration teilweise wieder aufgehoben. Ein Glycerinzusatz von 1 % erwies sich als optimal, um das Wachstum glyzerinophiler Stämme zu begünstigen und einem Feuchtigkeitsverlust entgegen zu wirken. Das Alter des Blutes spielte keine Rolle. Mindestens bis zu einem Alter von 56 Tagen erlitt das Blut keine Veränderungen seines nutritiven Wertes; selbst Blut mit einem Alter von 126 Tagen förderte noch deutlich das Wachstum der Tuberkelbakterien. - In einer Veröffentlichung aus dem Jahre 1951 empfahlen Frisch und Tarshis (10) das Blutmedium wegen der Einfachheit seiner Zubereitung und der leichten Beschaffbarkeit seiner Bestandteile als das Mittel der Wahl für kleine Laboratorien und Hospitäler. Um den vielfältigen biologischen Unterschieden der Tuberkelbakterienstämme bei diagnostischen Untersuchungen gerecht zu werden, forderte Tarshis (31) die Einbeziehung der Blutnährböden in die Reihe der Nährböden, die herkömmlicherweise zur Isolierung von Tuberkelbakterien verwendet werden. Zur Vermeidung von Verunreinigungen schlug er einen Zusatz von Penicillin zum Nährboden vor. In einer Konzentration von 10, 50 und 100 Einheiten pro ccm des Mediums verursachte Penicillin keine Hemmung der Tuberkelbakterien, schützte aber weitgehend vor den größten Verunreinigungen. Durchschnittlich stellte sich das Wachstum auf den Blutnährböden um eine Woche früher ein als auf Einährböden.

Um zu schnelleren experimentellen und diagnostischen Resultaten zu gelangen, empfiehlt Pryce (26) die Anwendung der Mikrokultur und das Arbeiten mit dem Mikroskop. Bereits früher waren Methoden der Mikrokultur beschrieben worden. 1924 benutzte Wright (38) Objektträger-Zellen und Kapillarpipet-

ten, die mit Blut gefüllt wurden, das mit Tuberkelbakterien beimpft worden war; das Blut durfte gerinnen und zusammenklumpen und die Kolonien, die darauf wuchsen, waren nach Ziehl-Neelsen gefärbt. Hesse, Meißner und Quast (15) modifizierten diese Technik und untersuchten mit ihr den bakterio-
statischen Effekt von Farbstoffen. Pryce (26) ließ tuberkulöses Sputum film-
artig auf Glas eintrocknen, behandelte es dann mit Säure zur Zerstörung der
Begleitflora und bebrütete es anschließend mit einem geeigneten Kulturmedium,
wozu er defibriniertes und hämolysiertes Menschenblut verwendete. Bei Verwen-
dung von Serum allein blieb das Wachstum spärlich. Auf hämolysiertem Blut
als Kulturmedium konnten deutliche Anzeichen des Wachstums bei Färbung nach
Ziehl-Neelsen und Verwendung starker mikroskopischer Vergrößerung schon nach
24 Stunden festgestellt werden. Nach 3 Tagen waren diese Anzeichen ganz deut-
lich. Bei seinen Versuchen verwendete Pryce allerdings nur humane Stämme.

1956 erschien eine Arbeit der französischen Forscher H. und M. Hinglais und
M. Langlade (18), in der diese die Vermutung aussprachen, daß Blutnährbö-
den u.U. auch erfolgreich zur Typendifferenzierung der Tuberkelbakterien
herangezogen werden könnten. Es hatte sich nämlich in ihren Untersuchungen
gezeigt, daß Menschenblut und Kaninchenblut für die Entwicklung der Tuber-
kelbakterien günstig waren, während Rattenblut eine hemmende Wirkung ent-
faltete. Das Wachstum des Typus bovinus wurde dabei zwar deutlich verlang-
samt und reduziert, hörte aber nicht völlig auf. Im Gegensatz dazu wirkte sich
die hemmende Eigenschaft des Rattenblutes voll auf die Entwicklung des Typus
humanus aus, der auch nach dreimonatiger Bebrütung kein Wachstum zeigte.
Ata und Staib (2) prüften an Hand je eines humanen und bovinen Stammes
die Ergebnisse der französischen Forscher nach und bezogen noch zusätzlich
einen Geflügelstamm in ihre Untersuchungen ein. Sie stellten Schrägagarröhr-
chen her, die einen Gehalt von 1 % Glyzerin und eine 8 bzw. 16 %ige Konzen-
tration von Rattenblut enthielten. Diese Röhrchen wurden mit Aufschwemmun-
gen der Tuberkelbakterienstämme beimpft und das Wachstum bis einschließlich
der 4. Woche beobachtet. Ihre Ergebnisse lauteten:

1. Auf 16 %igem Rattenblutagar wächst der Typus bovinus innerhalb von 3 Wo-
chen kräftig, dagegen der Typus humanus nicht.
2. 16 %iger Rattenblutagar ist nicht nur als Differentialnährboden, sondern
auch für den kulturellen Nachweis des Typus bovinus geeignet.
3. Der Typus gallinaceus wächst auf rattenbluthaltigem Nährboden langsamer
als der Typus bovinus.

In einer zweiten Mitteilung (3) berichteten Ata und Staib über Ergebnisse
an einem größeren Untersuchungsmaterial. Während in der ersten Mitteilung

die Resultate mit 14 Tage alten Kulturen erzielt worden waren, erhielten die beiden Forscher in ihrer zweiten Versuchsreihe mit 5 - 6 Wochen alten Kulturen andere Ergebnisse. Von 10 Stämmen des Typus humanus bildete zwar kein Stamm bis einschließlich der 4. Woche Kolonien, von 10 Stämmen des Typus bovinus wuchsen aber auch nur 6 Stämme auf den rattenbluthaltigen Nährböden. Die Verfasser vermuteten, daß das Alter der Kulturen für das Wachstum und die Differenzierung der Tuberkelbakterien auf Rattenblut-Glyzerin-Agar eine wichtige Rolle spielte.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Die Ergebnisse von Hinglais und Langlade sowie von Ata und Staib gaben den Anlaß zu meinen eigenen Untersuchungen. Mit den im Tierhygienischen Institut der Universität München vorhandenen Tuberkelbakterienstämmen sollte ich die Möglichkeiten der Typendifferenzierung auf rattenbluthaltigen Nährböden prüfen.

A. Material und Methodik

1. Die Tuberkelbakterienstämme

Bei den Untersuchungen wurden folgende Tuberkelbakterienstämme verwandt:

Mycobacterium tuberculosis var. hominis

167 A - MS	isoliert am	5. 1. 57	aus menschlichem Sputum
167 A	" "	5. 1. 57 "	" "
100 B - MS	" "	2. 7. 56 "	" "
103 B - MS	" "	16. 7. 56 "	" "
144 B	" "	18. 6. 57 "	" "
39	" "	14. 3. 57 "	" "
102	" "	25. 7. 57 "	" "
101	" "	25. 7. 57 "	" "
148	" "	31. 10. 57 "	" "
155	" "	18. 11. 57 "	" Magensaft

Mycobacterium tuberculosis var. bovis

27	MS	isoliert am	18. 2. 57	aus Katzenlunge
124 A - MS	" "	12. 4. 56 "	menschlichem Halslymphknoten	
85 - MS	" "	7. 6. 57 "	Liquor vom Mensch	
204 - MS	" "	28. 11. 56 "	Kaninchenlunge	
152 B	" "	30. 11. 56 "	Knochentuberkulose vom Mensch	
121 B	" "	16. 11. 56 "	menschlichem Sputum	
113 A	" "	20. 2. 57 "	"	Magensaft
Bo-Wa 13	Herkunft unbekannt			
110 M	"	"	"	"

Mycobacterium avium

Av 1 isoliert am 23. 7. 56 aus Leber vom Huhn

Av 5 " " 13. 8. 56 " " " "

2. Die Herstellung der Blutnährböden

Das Blut wurde aus weißen Ratten durch Herzpunktion in Äthernarkose gewonnen. Die Punktierstelle an der linken Brustseite wurde vorher geschoren und mit Alkohol gründlich gereinigt. Zur Punktion verwendete ich für jede Ratte eine frisch ausgekochte 16er Knüle und eine 5 ccm-Record-Spritze. Zu je 2 ccm einer sterilen Zitratlösung, die in weithalsigen sterilen Reagenzgläsern abgefüllt war, fügte ich unter sterilen Kautelen 8 ccm Rattenblut hinzu. Die Zitratlösung bestand aus

Natriumcitrat	6,65 gr
Zitronensäure	2,35 gr
Glukose	11,50 gr
Dest. Wasser	100 ccm

Die Lösung wurde getrennt im Dampftopf sterilisiert. Blut und Zitratlösung wurden vorsichtig gemischt und anschließend im Kühlschrank aufbewahrt.

2 %iger Nähragar, dessen p_{H} -Wert auf 6,5 - 6,8 eingestellt worden ist, wurde im Dampftopf an drei aufeinander folgenden Tagen sterilisiert. Die Einstellung des p_{H} -Wertes erwies sich als wichtig, da der Nähragar im allgemeinen schwach alkalisch reagierte und auf solchen Nährbodenröhrchen kein Wachstum der Tuberkelbakterien eintritt. Je nach Bedarf setzte ich dem flüssigen Agar noch 1 % Glycerin hinzu. Nach dem Sterilisieren des Agar wurde er bei 56°C im Wasserbad flüssig gehalten. Dann wurden zu 120 ccm Agar 30 ccm Zitratblut zugesetzt, was einer Blutkonzentration von 16 % entsprach. Jeweils ca. 6 ccm dieses flüssigen Rattenblutagars sind dann in sterile Reagenzgläser abgefüllt worden, die bis zur Erstarrung des Agars schräg gelagert wurden. Nun wurden die fertigen Röhrchen 24 Stunden im Brutschrank bei 38°C probebebrütet und verunreinigte Röhrchen ausgeschieden. Die Schrägagarröhrchen konnten im Eisschrank einige Wochen aufbewahrt werden.

Auf die gleiche Weise wurden auch Schrägagar-Röhrchen aus steril gewonnenem Hammelblut hergestellt.

3. Die Beimpfung der Blutnährböden

Die Beimpfungen der Blutagarröhrchen wurden stets in einem Raum vorgenommen, in dem der Keimgehalt der Luft durch UV-Bestrahlung weitgehend reduziert war. Tuberkelbakterien, die auf Einährböden nach Petrag nani oder Löwenstein gewachsen sind, wurden in 0,2 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit einem Glasstab gut verrieben. Von dieser unverdünnten Ausgangslösung wurden 0,1 ccm auf Schrägagarröhrchen pipettiert und der Rest mit 100 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung in einem Erlenmeyerkolben verdünnt (Verdünnung 1:100). Dieser Kolben, in dem sich auch eine größere Anzahl steriler Glasperlen befand, wurde im Schüttelapparat ca. 30 Minuten lang geschüttelt, so daß eine homogene Suspension entstand. Von dieser Aufschwemmung wurden mit physiologischer Kochsalzlösung weitere Verdünnungen und zwar 1:1000, 1:10 000, 1:100 000, 1:1 000 000 usw. hergestellt.

Von diesen Keimaufschwemmungen wurden mit sterilen Pipetten jeweils 0,1 ccm auf die Oberfläche eines Schrägagar-Blutröhrchens gebracht. Die gleichmäßige Verteilung der Tuberkelbakterienaufschwemmung erfolgte durch vorsichtiges Schwenken der Röhrchen. Zur Kontrolle sind in gleicher Weise auch Kulturröhrchen mit Einährböden nach Petrag nani beimpft worden. In schräger Lagerung wurden die Blutagarröhrchen zunächst 3 Tage bebrütet. Danach wurden die Röhrchen zuparaffiniert und aufrechtstehend bei 38° C weiter bebrütet. Bei Verunreinigungen wurde das Medium sofort dunkel bis schwarz, während reine Medien ihre ursprüngliche Farbe behielten und erst später dunkler wurden. Die Ablesung erfolgte in den ersten drei Wochen zweimal wöchentlich, späterhin einmal in der Woche. Die Gesamtbeobachtungsdauer betrug 6 Wochen. Die Kontrolle der Kulturen erfolgte makroskopisch und durch Anfertigung von Ziehl-Neelsen-Präparaten von der Oberfläche der Röhrchen.

Die Keimzahl der Ausgangslösung wurde nach einem Verfahren durchgeführt, das mir im Prinzip von F. Staib mitgeteilt worden war (briefliche Mitteilung). Eine abgemessene Menge der durch Schütteln mit Glasperlen erzielten homogenen Aufschwemmung von Tuberkelbakterien wird auf Petrag nani - Nährböden, die sich in besonders großen Reagenzgläsern befinden, pipettiert. Von jedem Stamm werden dabei mehrere Kontrollen angelegt, und nach 21 - 28 Tagen wird die Zahl der Kolonien abgelesen.

Selbstverständlich ermöglicht dieses Verfahren nur eine ungefähre Keimzahlermittlung. Die Hauptfehlerquellen sind die nie ganz homogene Aufschwemmung der Tuberkelbakterien, die ja die Tendenz haben, zusammen zu klumpen und die Tatsache, daß auf den Einährböden nach Petrag nani mit und ohne Glyzerinzusatz auch nicht alle Tuberkelkeime angehen.

Die Keimdichte der Ausgangssuspensionen war bei den einzelnen Typen:

Humane Stämme:	ca. 200 000 000 pro ccm
Bovine Stämme:	ca. 100 000 000 pro ccm
Aviäre Stämme:	ca. 500 000 000 pro ccm

Von diesen Ausgangssuspensionen wurden dann die Verdünnungen hergestellt (1:100, 1:1000 usw.).

B. Untersuchungsergebnisse

Die Untersuchungsergebnisse sind in den Tabellen 1 - 12 zusammengestellt worden.

Zeichenerklärung zu den Tabellen: Aus dem in Klammern nach dem Tuberkelbakterienstamm angeführten Datum kann das Alter der jeweiligen Kultur zum Zeitpunkt der Überimpfung entnommen werden. Das Wachstum der Kulturen wurde wie folgt gekennzeichnet:

- kein Wachstum
- + fragliches Kolonienwachstum
- + vereinzelte Kolonien
- ++ aufgelockerter Kolonienrasen
- +++ dichter Kolonienrasen

Tabelle 1

Datum der Beimpfung	Tuberkel- bakterien- stamm	Verdünnung	Nährboden	Wachstum in der					
				1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche	5. Woche	6. Woche
5. 4. 57	Humanns 167 A-MS (7. 3. 57)	unverdünnt 1:100	Rattenblut-Glycerin-Agar Rattenblut-Glycerin-Agar Rattenblut-Glycerin-Agar Hammelblut-Glycerin-Agar Hammelblut-Glycerin-Agar Petraguani mit Glycerin Petraguani ohne Glycerin	- - - - - - -	+ - - ++ + - -	+++ + - +++ +++ ++ ++	+++ ++ + +++ +++ +++ +++	+++ ++ + +++ +++ +++ +++	+++ ++ + +++ +++ +++ +++
5. 4. 57	Bovinus 27 MS (6. 3. 57)	unverdünnt 1:100	Rattenblut-Glycerin-Agar Rattenblut-Glycerin-Agar Rattenblut-Glycerin-Agar Rattenblut-Glycerin-Agar Hammelblut-Glycerin-Agar Petraguani mit Glycerin Petraguani ohne Glycerin	- - - - - - -	- - - - - - -	+ + + - + - -	+ + + - ++ - +++	+ + + - ++ ++ +++	+ + + - ++ ++ +++

Tabelle 2

Datum der Beimpfung	Tuberkel- bakterien- stamm	Verdünnung	Nährboden	Wachstum in der					
				I. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche	5. Woche	6. Woche
12. 4. 57	Humanus 167 A (6. 2. 57)	unverdünt	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	+++	+++	+++	+++	+++
		1:100	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	+	+	+	+	+
		"	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	++	+++	+++	+++	+++
		"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	++	+++	+++	+++	+++
		"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	++	++	+++	+++	+++
		"	Petragnani mit Glycerin	-	-	+	++	+++	+++
		"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	+	+	++	+++
12. 4. 57	Bovinus 152 B (22. 2. 57)	unverdünt	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	++	+++	+++	+++	+++
		1:100	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	+	+	+	+	+
		"	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	+	+	-	-
		"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	++	+++	+++	+++	+++
		"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	++	+++	+++	+++	+++
		"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	+	+	+	+
		1:1000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	+	+	+	+
		"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	+	++	+++	+++	+++
		"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	-	-	+	+

Tabelle 3

Datum der Beimpfung	Tuberkel- bakterien- stamm	Verdünnung	Nährboden	Wachstum in der					
				1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche	5. Woche	6. Woche
15. 4. 57	Bovinus	unverdünt	Rattenblut-Glycerin-Agar	++	++	++	+++	+++	+++
	27	"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	+	+	++	++	++
	(18. 2. 57)	1:100	Rattenblut-Glycerin-Agar	+	+	+	++	++	+++
	"	"	Hammelblut-Glycerin-Agar	+	++	+++	+++	+++	+++
	"	"	Hammelblut-Glycerin-Agar	+	+	++	+++	+++	+++
	"	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	-	++	++	++
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	+	++	+++	+++

Tabelle 4

29. 4. 57	Humanus	1:100	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	+	++	+++	+++	+++
	39	1:1000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	++	+++	+++	+++
	(15. 4. 57)	1:100000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	+	-	-	-
	"	"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	+	+	++	++
	"	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	-	-	-	-
		1:10000000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	+	-	-	-	-
	"	"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	-	-	-	-
		1:1000000000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	"	"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	-	-	-	-
	"	"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	-	-	-	-

Datum der Beimpfung	Tuberkel- bakterien- stamm	Verdünnung	Nährboden	Wachstum in der				
				1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche	5. Woche
29. 4. 57	Bovinus	1:100	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	+	+++	+++	+++
	Bo-Wa 13	1:1000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	+	-	-
	(5. 3. 57)	1:1000000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-
	auf	"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-
	Petragnani	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	-	-	-
	mit Glyz.	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	-	-	-
		1:100000000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-
	"	"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	-	-	-
		1:1000000000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-
	"	"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	-	-	-

Fortsetzung Tabelle 4

29.4.57	Bovinus	1:100	Rattenblut-Glyzerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	Bo-Wa 13	1:1000	Rattenblut-Glyzerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	(5.3.57)	1:100000	Rattenblut-Glyzerin-Agar	-	-	verunreinigt	++	++	++
	auf	"	Petragnani mit Glyzerin	-	-	-	-	-	-
	Petragnani	"	Petragnani ohne Glyzerin	-	-	-	-	-	-
	<u>ohne Glyz.</u>	1:10000000	Rattenblut-Glyzerin-Agar	-	-	verunreinigt	-	-	-
	"	"	Petragnani mit Glyzerin	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani ohne Glyzerin	-	-	-	-	-	-
	"	1:1000000000	Rattenblut-Glyzerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani mit Glyzerin	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani ohne Glyzerin	-	-	-	-	-	-
29.4.57	Gallina-	1:100	Rattenblut-Glyzerin-Agar	-	++	+++	+++	+++	+++
	ceus	1:1000	Rattenblut-Glyzerin-Agar	-	-	verunreinigt	-	-	-
	Av 1	1:100000	Rattenblut-Glyzerin-Agar	-	-	verunreinigt	-	-	-
	(27.3.57)	"	Hammelblut-Glyzerin-Agar	-	-	+++	+++	+++	+++
	"	"	Petragnani mit Glyzerin	-	-	-	++	+++	+++
	"	"	Petragnani ohne Glyzerin	-	-	-	++	+++	+++
	"	1:10000000	Rattenblut-Glyzerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	"	"	Hammelblut-Glyzerin-Agar	-	-	+	++	+++	+++
	"	"	Petragnani mit Glyzerin	-	-	-	-	++	++
	"	"	Petragnani ohne Glyzerin	-	-	-	-	+	+++
	"	1:1000000000	Rattenblut-Glyzerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	"	"	Hammelblut-Glyzerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani mit Glyzerin	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani ohne Glyzerin	-	-	-	-	-	-

Fortsetzung Tabelle 4

Datum der Beimpfung	Tuberkel- bakterien- stamm	Verdünnung	Nährboden	Wachstum in der 1. Woche 2. Woche 3. Woche 4. Woche 5. Woche 6. Woche
29. 4. 57	Humanus	1:100	Rattenblut-Glycerin-Agar	- + - - - - ++
	100 B-MS	1:1000	Rattenblut-Glycerin-Agar	- - - - - - -
	(15. 4. 57)	1:100000	Rattenblut-Glycerin-Agar	- - - - - - -
	"	"	Petragnani mit Glycerin	- - - - - - ++
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	- - - - - - ++
	1:10000000	"	Rattenblut-Glycerin-Agar	- - - - - - verunreinigt
	"	"	Petragnani mit Glycerin	- - - - - - -
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	- - - - - - -
	1:1000000000	"	Rattenblut-Glycerin-Agar	- - - - - - -
	"	"	Petragnani mit Glycerin	- - - - - - -
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	- - - - - - -

Tabelle 5

19. 8. 57	Bovinus	1:1000	Rattenblut-Glycerin-Agar	- - - - - - -
	124 A-MS	"	Petragnani mit Glycerin	- - - - - - ++
	(14. 6. 57)	"	Petragnani ohne Glycerin	- - - - - - ++
	auf	1:10000	Rattenblut-Glycerin-Agar	- - - - - - -
	Petragnani	"	Petragnani mit Glycerin	- - - - - - ++
	ohne Glyz.	"	Petragnani ohne Glycerin	- - - - - - ++
	1:100000	"	Rattenblut-Glycerin-Agar	- - - - - - -
	"	"	Petragnani mit Glycerin	- - - - - - ++
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	- - - - - - ++
	1:1000000	"	Rattenblut-Glycerin-Agar	- - - - - - verunreinigt
	"	"	Petragnani mit Glycerin	- - - - - - ++
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	- - - - - - ++

Table 6

[illegible]

Tabelle 7

Datum der Beimpfung	Tuberkelbakterienstamm	Verdünnung	Nährboden	Wachstum in der 1. Woche 2. Woche 3. Woche 4. Woche 5. Woche 6. Woche		
19.9.57	Humanus	1:1000	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	+	++
	103 B-MS	"	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	+	+
	(19.8.57)	"	Petragnani mit Glycerin	-	+	+++
	auf Petrag-	1:10000	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	+	+++
	nani mit	"	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	verunreinigt	-
	Glycerin	"	Petragnani mit Glycerin	-	+	+++
	1:100000	"	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	+	-
	"	"	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	+	-	-
	"	"	Petragnani mit Glycerin	-	+	+++
	1:1000000	"	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	-
	"	"	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	-
	"	"	Petragnani mit Glycerin	-	+	+++
19.9.57	Bovinus	1:1000	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	++
	204-MS	"	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	-
	(19.8.57)	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	+++
	auf Petrag-	1:10000	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	-
	nani ohne	"	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	verunreinigt	+++
	Glycerin	"	Petragnani ohne Glycerin	-	+	+++
	1:100000	"	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	-
	"	"	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	-
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	-	+	+++
	1:1000000	"	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	-
	"	"	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	-
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	-	+	+++

Fortsetzung Tabelle 7

Datum der Beimpfung	Tuberkel- bakterien- stamm	Verdünnung	Nährboden	Wachstum in der					
				1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche	5. Woche	6. Woche
19. 9. 57	Gallina- ceus Av 5 (21. 6. 57) auf Petrag- nani mit Glycerin	1:1000 " " 1:10000 " 1:100000 " 1:1000000 " "	Rattenblut-Agar ohne Glyz. Rattenblut-Agar ohne Glyz. Petragnani mit Glycerin Rattenblut-Agar ohne Glyz. Rattenblut-Agar ohne Glyz. Rattenblut-Agar ohne Glyz. Petragnani mit Glycerin Rattenblut-Agar ohne Glyz. Rattenblut-Agar ohne Glyz. Rattenblut-Agar ohne Glyz. Rattenblut-Agar ohne Glyz. Petragnani mit Glycerin	- - - - - - - - - - - -	+++ +++ - +++ +++ - ++ ++ - ++ ++ -	+++ +++ +++ +++ +++ ++ ++ ++ ++ +++ verunreinigt -	+++ +++ +++ +++ +++ +++ ++ +++ +++ +++ +++ ++	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++ +++ +++ +++ +++ ++	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++ +++ +++ +++ +++ +++

Tabelle 8

Datum der Beimpfung	Tuberkel- bakterien- stamm	Verdünnung	Nährboden	Wachstum in der 1. Woche 2, Woche 3, Woche 4, Woche 5, Woche 6, Woche			
23.11.57	Humanus	1:1000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	+	++
	144 B	"	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-
	(15.10.57)	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	+++	+++
	auf Petrag-	1:10000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	+	+	+
	nani mit	"	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	verunreinigt		
	Glycerin	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	++	++
		1:100000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-
	"	"	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-
	"	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	-	+
		1:1000000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-
	"	"	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-
	"	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	-	-
23.11.57	Bovinus	1:1000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-
	110 M	"	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	verunreinigt		
	(15.10.57)	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	+++	+++
	auf Petrag-	1:10000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	+	++	++
	nani ohne	"	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	verunreinigt		
	Glycerin	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	+++	+++
		1:100000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-
	"	"	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	++	++
		1:1000000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-
	"	"	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	-	+	++	++

Tabelle 9

Datum der Beimpfung	Tuberkel- bakterien- stamm	Verdünnung	Nährboden	Wachstum in der					
				1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche	5. Woche	6. Woche
7. 12. 57	Humanus 101 (8. 11. 57) auf Petrag- nani mit Glycerin	1:1000 " " 1:10000 " " 1:100000 " " 1:1000000 " "	Rattenblut-Glycerin-Agar Rattenblut-Glycerin-Agar Petragnani mit Glycerin Rattenblut-Glycerin-Agar Rattenblut-Glycerin-Agar Petragnani mit Glycerin Rattenblut-Glycerin-Agar Rattenblut-Glycerin-Agar Petragnani mit Glycerin Rattenblut-Glycerin-Agar Rattenblut-Glycerin-Agar Petragnani mit Glycerin	- - - - - - - - - - - -	- + - - - verunreinigt - - - - - -	- ++ ++ - - - - - - - - - -	- ++ +++ - - - ++ - - - - - +	- ++ +++ - - - ++ - - - - - +	- +++ +++ - - - +++ - - - - - ++

28

Tabelle 10

14. 12. 57	Humanus 148 (31. 10. 57) auf Löwen- stein	1:1000 " " 1:10000 " " 1:100000 " " 1:1000000 " "	Rattenblut-Glycerin-Agar Rattenblut-Glycerin-Agar Petragnani mit Glycerin Rattenblut-Glycerin-Agar Rattenblut-Glycerin-Agar Petragnani mit Glycerin Rattenblut-Glycerin-Agar Rattenblut-Glycerin-Agar Petragnani mit Glycerin Rattenblut-Glycerin-Agar Rattenblut-Glycerin-Agar Petragnani mit Glycerin	- - - - - - - - - - - -	+++ +++ - + - - - - - - - -	+++ +++ +++ ++ - +++ - - - - - -	+++ +++ +++ +++ + +++ - - - - - ++	+++ +++ +++ +++ ++ +++ - - - - - ++	+++ +++ +++ +++ ++ +++ - - - - - ++
------------	---	--	--	--	--	---	---	--	--

Tabelle 11

Datum der Beimpfung	Tuberkel- bakterien- stamm	Verdünnung	Nährboden	Wachstum in der					
				1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche	5. Woche	6. Woche
19.12.57	Humanus	1:1000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	155	"	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	(19.11.57)	"	Petragnani mit Glycerin	-	+	+++	+++	+++	+++
	auf Löwen- stein	1:10000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	"	"	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	-	+++	+++	+++
	1:100000	1:100000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	"	"	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	-	++	++	++
	1:1000000	1:1000000	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	"	"	Rattenblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	-	-	+	+
18.1.58	Humanus	1:10000	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	++	+++	+++	+++	+++
	155	"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	+	+++	+++	+++	+++
	(19.12.57)	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	-	+++	+++	+++
	auf Petrag- nani mit Glycerin	1:100000	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	++	++	++	++
	"	"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	++	+++	+++	+++
	"	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	-	++	++	++
	1:1000000	1:1000000	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	"	"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	-	-	-	-
	1:10000000	1:10000000	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	"	"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani mit Glycerin	-	-	-	-	-	-

Fortsetzung Tabelle 11

Num. der Beimpfung	Tuberkel- stamm	Verdünnung	Nährboden	Wachstum in der					
				1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche	5. Woche	6. Woche
18. 1. 58	Bovinus	1:10000	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	-	++	++	+++
	113	"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	-	++	+++	+++
	(8.11.57)	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	+++	+++	+++	+++
	auf Petrag-1:100000	"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	-	++	+++	+++
	nani mit	"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	++	+++
	Glycerin	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	-	+++	+++	+++
		1:1000000	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	+	+
		"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
		"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	-	-	-	-
		1:10000000	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
		"	Hammelblut-Glycerin-Agar	-	-	-	-	-	-
		"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	-	-	-	-

Tabelle 12

25. 1. 58	Bovinus	1:1000	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	-	-	-	-
	121 B	"	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	-	-	-	-
	(16.11.57)	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	-	-	+	++
	auf Petrag-1:10000	"	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	-	-	-	-
	nani mit	"	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	-	-	-	-
	Glycerin	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	-	-	+	+
		1:100000	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	-	-	-	-
	"	"	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	-	-	-	-
		1:1000000	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	-	-	-	-
	"	"	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	-	-	-	-
		1:1000000	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	-	-	-	-
	"	"	Rattenblut-Agar ohne Glyz.	-	-	-	-	-	-
	"	"	Petragnani ohne Glycerin	-	-	-	-	-	-

verunreinigt

C. Diskussion der Ergebnisse

1. Die Untersuchungen zeigten, daß Blutnährböden zur Züchtung von Tuberkelbakterien hervorragend geeignet sind. Die Kolonien sind auf dem dunklen Untergrund leicht sichtbar und eine Diagnose ist wegen des schnelleren Wachstums der Tuberkelbakterien früher möglich als auf Eiernährböden. Die Schnelligkeit des Auftretens der ersten sichtbaren Kolonien ist allerdings direkt abhängig von der Konzentration des Impfmateri als: während bei unverdünnter oder nur wenig verdünnter Tuberkelbakterienaufschwemmung deutliches Kolonienwachstum schon nach 10 - 15 Tagen sichtbar war (Tab. 1, 2, 3), trat dieses bei stärkerer Verdünnung des Impfmateri als erst in der dritten bis vierten Woche auf (Tab. 4).
2. Die Behauptungen von H. und M. Hinglais und M. Langlade (18), daß Rattenblut im Gegensatz zum Blut anderer Tierarten und des Menschen eine besonders hemmende Eigenschaft auf die Entwicklung von Tuberkelbakterien besitzt, kann nur mit Einschränkungen bestätigt werden. Einzelne Stämme verhalten sich da sehr verschieden. So wuchs z.B. der Stamm Humanus 155 (Tab. 11) auf Rattenblut-Glyzerin-Agar in sämtlichen Verdünnungsstufen nicht, wögegen sein Wachstum auf Hammelblut-Glyzerin-Agar üppig und bereits ab der zweiten Woche deutlich wahrnehmbar erfolgte. Andererseits gibs es Stämme, z.B. Humanus 102 (Tab. 6), die auf Rattenblut-Glyzerin-Agar üppiges Wachstum bereits am Ende der ersten Woche zeigten. Ein solches unterschiedliches Verhalten zeigten nicht nur die Menschenstämme, sondern auch die Rinder- und Geflügelstämme.

Daß Rattenblut aber eine gewisse Hemmwirkung auf das Wachstum der Tuberkelbakterien besitzt, zeigt die Tatsache, daß in einigen Fällen ein Wachstum auf Hammelblut-Agar noch bei Keimverdünnungen zu beobachten war, bei denen es auf Rattenblut-Agar zu keinem Kolonienwachstum mehr kam. So wuchs der Stamm Bovinus 113 (Tab. 11) auf Hammelblut-Agar noch bei der Verdünnung 1:1 000 000, mit der auf Rattenblut-Agar bei keinem Rinderstamm Wachstum erzielt werden konnte. Der Geflügelstamm Av 1 (Tab. 4) wuchs auf dem Hammelblut-Nährboden sogar noch bei einer Verdünnung von 1:10 000 000, was beim Rattenblut-Nährboden nicht mehr der Fall war. Auch der Stamm Humanus 39 (Tab. 4) zeigte in der Verdünnung 1:100 000 nur noch auf Hammelblut-Agar sichtbares Wachstum.

Die vergleichsweise beimpften Petragani-Nährböden mit und ohne Glyzerinzusatz zeigten demgegenüber noch bei einer Verdünnung von 1:1 000 000 deutliches Kolonienwachstum. Diese Empfindlichkeit wurde von den Hammelblut-Glyzerin-Nährböden zwar nicht ganz erreicht; auf letzteren trat aber das Kolonienwachstum früher auf.

3. Für eine zuverlässige Typendifferenzierung eignet sich der Rattenblut-Glyzerin-Agar in der beschriebenen Zusammensetzung nicht. Im Gegensatz zu den Beobachtungen von Hinglais und Langlade (18) und Ata und Staib (2, 3) wuchsen in meinen Versuchen beide Variationen des *Mycobacterium tuberculosis* und auch das *Mycobacterium avium* auf dem rattenbluthaltigen Nährboden.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Übersicht zusammengestellt.

a) Humane Stämme

Wachstum auf Rattenblut-Agar nach 4 Wochen

Stamm	Verdünnung					
	1:100	1:1000	1:10000	1:100000	1:1 Mill.	1:10 Mill.
167 A-MS	++					
167 A	+++					
39	+++	+++		-		-
100B-MS	+			-		
102		+++	+++	-	-	
103B-MS		++	-	-	-	
144 B		-	+	-	-	
101		++	-	-	-	
148		+++	+++	-	-	
155		-	-	-	-	

b) Bovine Stämme

Wachstum auf Rattenblut-Agar nach 4 Wochen

Stamm	Verdünnung					
	1:100	1:1000	1:10000	1:100000	1:1 Mill.	1:10 Mill.
27 MS	+					
152 B	++	+				
27	++					
Bo-Wal3+		+++				-
Bo-Wal3-	-			++		-
124A-MS		-	-	-		
85 MS		++	++	+	-	
204 MS		-	-	-	-	
110 M		-	+	-	-	
121 B		-	-	-	-	

c) Geflügelstämme

Wachstum auf Rattenblut-Agar nach 4 Wochen

Stamm	Verdünnung					
	1:100	1:1000	1:10000	1:100000	1:1 Mill.	1:10 Mill.
Av 1	+++					-
Av 5		+++	+++	+++	+++	-

Von 10 untersuchten humanen Stämmen zeigten 9 Stämme im Verdünnungsbereich zwischen 1:100 und 1:10000 der Ausgangssuspension deutliches Wachstum auf rattenbluthaltigem Agar-Nährboden. Ein Stamm (155, Tab. 11) wuchs nur auf Hammelblutagar und Petagnani-Nährböden. In höheren Verdünnungsbereichen als 1:10000 erfolgte bei keinem der humanen Stämme Kolonienwachstum.

Von 10 untersuchten bovinen Stämmen zeigten 7 Stämme im Verdünnungsbereich zwischen 1:100 und 1:100000 der Ausgangssuspension deutliches Wachstum auf rattenbluthaltigem Agar-Nährboden, drei Stämme (124 A-MS, Tab. 5; 204-MS, Tab. 7; 121 B, Tab. 12) wuchsen nicht, obwohl sie auf Petagnani-Nährböden bei diesen Verdünnungen gewachsen sind. In höheren Verdünnungsbereichen als 1:100000 erfolgte kein Kolonienwachstum. Beide untersuchten Geflügelstämme zeigten üppiges Wachstum in der Verdünnung 1:100 bis 1:1000000 auf rattenbluthaltigem Nährboden. In höherer Verdünnung als 1:1000000 erfolgte kein Kolonienwachstum.

Bemerkenswert ist, daß das Wachstum der humanen Stämme in der Regel üppiger als das der bovinen Stämme war und die ersten Kolonien der Menschentuberkelbakterien im allgemeinen um eine Woche früher auftraten als die Kolonien der Rinderstämme. Abweichend von den Untersuchungen von Ata und Staib trat das erste Wachstum bei den Geflügelstämmen erheblich früher auf als bei den bovinen Stämmen. Bei den Geflügeltuberkelbakterien war bereits zu Beginn der zweiten Bebrütungswoche üppiges und deutliches Kolonienwachstum bis zu einer Verdünnung der Ausgangssuspension von 1:1000000 zu beobachten (Tab. 4, 7).

4. Es wurde vergeblich nach einem Verdünnungsbereich gesucht, in dem die Typendifferenzierung in der von Hinglais und Langlade sowie von Ata und Staib geschilderten Weise zuverlässig vorgenommen werden könnte. Nur in zwei Fällen (Stamm Bovinus Bo-Wa 13, Tab. 4 und Stamm Bovinus 85-MS, Tab. 6) wuchsen die Rindertuberkelbakterienkolonien noch in einer Verdünnung von 1:100000, in einer Verdünnung also, in der bei keinem Menschentuberkelbakterienstamm ein Wachstum auf rattenbluthal-

tigem Nährboden auftrat. Bei niedrigeren Verdünnungen wuchsen sowohl Menschen- als auch Rindertuberkelbakterienstämme mit den oben erwähnten Ausnahmen einiger Stämme, bei höheren Verdünnungen als 1:100000 konnte bei beiden Typen ein Wachstum auf Rattenblut-Agar nicht mehr beobachtet werden.

5. Morphologisch verhalten sich die Tuberkelbakterientypen auf den Blut-Nährböden ähnlich wie auf den anderen festen Nährmedien. Die Kolonien der Menschentuberkelbakterien sind trockenkrümelig und gelblich, die der Rindertuberkelbakterien feuchtglänzend und weiß.
6. Es hat den Anschein, daß das Kolonienwachstum der Stämme auch abhängig ist vom Glyzeringehalt des Rattenblut-Nährbodens. Der Stamm Humanus 103 B-MS (Tab. 7) wuchs auf Rattenblut-Agar ohne Glyzerinzusatz nur in der Verdünnung 1:100, die beiden bovinen Stämme 204-MS (Tab. 7) und 121 B (Tab. 12) wuchsen auf Rattenblut-Agar ohne Glyzerinzusatz überhaupt nicht. Der Geflügelstamm Av 5 (Tab. 7) zeigte ab Beginn der zweiten Woche üppiges Wachstum auf Rattenblut-Agar ohne Glyzerinzusatz.
7. Ata und Staib verwendeten bei ihren ersten Versuchen (2) 14 Tage alte Kulturen, bei den Versuchen, die zu ihrer zweiten Mitteilung (3) führten, dagegen 5 - 6 Wochen alte Kulturen. Sie vermuten, daß das verschiedene Alter der Kulturen mitbestimmend für die voneinander abweichenden Ergebnisse ihrer ersten und zweiten Versuchsreihe ist.

Das Alter der von mir verwendeten Tuberkelstämme variierte ebenfalls:

<u>Humane Stämme</u>				<u>Bovine Stämme</u>			
176 A-MS	- 4	Wochen	alt	27 MS	- 4	Wochen	alt
167 A	- 9	"	"	152 B	- 7	"	"
39	- 2	"	"	27	- 8	"	"
100 B-MS	- 2	"	"	Bo-Wa 13	- 8	"	"
102	- 5	"	"	124 A-MS	- 9	"	"
103 B-MS	- 5	"	"	85 MS	- 8	"	"
144 B	- 6	"	"	204 MS	- 5	"	"
101	- 4	"	"	110 M	- 6	"	"
148	- 6	"	"	113	-10	"	"
155	- 5	"	"	121 B	-10	"	"
<u>Geflügelstämme</u>							
Av 1	- 5	"	"	Av 5	-13	"	"

Ein Einfluß des Alters auf die Ergebnisse der Differenzierungsmethode und auf das Angehen auf Rattenblut-Agar konnte aber nicht festgestellt werden.

IV. Z U S A M M E N F A S S U N G

1. Es wurden Verdünnungsreihen von 10 Menschen-, 10 Rinder- und 2 Geflügeltuberkelbakterienstämmen hergestellt und auf Rattenblut-Agar mit und ohne Glyzerinzusatz verimpft. Zur Kontrolle wurden Eiernährböden nach Petraghani herangezogen.
2. Von den untersuchten humanen Stämmen zeigten 9 deutliches Wachstum auf rattenbluthaltigem Agar-Nährboden in mindestens einem der Verdünnungsbereiche zwischen 1:100 und 1:10000 der Ausgangssuspension, 1 Stamm wuchs nicht.
3. Von den untersuchten bovinen Stämmen zeigten 7 Stämme deutliches Wachstum auf rattenbluthaltigem Agar-Nährboden in mindestens einem der Verdünnungsbereiche zwischen 1:100 und 1:100000, 3 Stämme wuchsen nicht.
4. Die beiden untersuchten Geflügelstämme zeigten frühzeitiges und üppiges Wachstum auf rattenbluthaltigem Agar-Nährboden in nahezu allen Verdünnungsbereichen.
5. Eine zuverlässige Typendifferenzierung auf rattenbluthaltigem Nährboden war nicht möglich, da sowohl beide Variationen des *Mycobacterium tuberculosis* als auch das *Mycobacterium avium* auf dem Nährboden wuchsen. Es bestanden allerdings Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen der verschiedenen Typen.

V. LITERATURVERZEICHNIS

1. Altevogt, R. und
B. Kuckheim: Ein neuer Versuch zur Typendifferenzierung von Tuberkelbazillen.
Zbl. Bakt. I Orig. 162, 90 (1955)
2. Ata, S. und
F. Staib: Beitrag zu einer neuen kulturellen Differenzierungsmöglichkeit des Mycobacterium tuberculosis, Typus humanus und Typus bovinus auf rattenbluthaltigem Nährboden.
Der Tuberkulosearzt, 11, 10 (1957)
3. Dieselben: Differenzierung des Mycobacterium tuberculosis, Typus humanus und Typus bovinus auf rattenbluthaltigem Nährboden. 2 Mitt.
Der Tuberkulosearzt, 11, 517/1957
4. Braun, H.: zitiert nach G. Lebek
5. Canetti, G. und
Mitarbeiter: zitiert nach E. Hain und K. Groth
6. Corper, H.J. and
M.L. Cohn: Media for Tubercle Bacilli.
Am. Rev. Tbc. 46 (1942) 560
7. Dehmel, H.: Über die Technik der Tuberkelbakterienzüchtung und ihre Fehlerquellen als Ursache verschiedener Untersuchungsergebnisse.
Zbl. Bakt. I. Orig. 130 (1933)
8. Dubos, R.J. and
G. Middlebrook: Media for Tubercle Bacilli.
Am. Rev. Tbc. 56 (1947) 334
9. Ferenczi, G. und
Mitarbeiter: zitiert nach E. Hain und K. Groth
10. Frisch, A.W. and
M.S. Tarshis: Blood Media for Culturing Tubercle Bacilli.
Am. Rev. Tbc. 64 (1951) 551
11. Gottsacker, E.: Die Entwicklung der Kultur des Erregers der Tuberkulose von 1882 bis heute.
Zbl. Bakt. Ref. 147 (1949) 196
12. Derselbe: Die Kultur des Erregers der Tuberkulose. Die Differenzierung der Typen auf Eigelbnährböden.
Zbl. Bakt. I. Orig. 156 (1950/51) 351

13. Hain, E. und K. Groth: Zur Leistungsfähigkeit von Kulturverfahren in der Tuberkulose-Diagnostik.
Beitr. Klin. Tbk. 115 (1956), 282
14. Hallmann, L.: Bakteriologische Nährböden.
Georg Thieme-Verlag, Stuttgart (1953)
15. Hesse, E., G. Meißner und G. Quast: Beiträge zur Chemotherapie der Tuberkulose.
Arch. Exper. Path. Pharmac. 135 (1928), 821
16. Hohn, J.: Die Kultur des Tuberkelbazillus zur Diagnose der Tuberkulose.
Zbl. Bakt. I. Orig. 98 (1926), 460
17. Hornung: Diskussionen zum Thema Tuberkulose.
Zbl. Bakt. I. Orig. 154 (1949), 27⁺
18. Hinglais, H., M. Hinglais et M. Langlade: Cultures du bacille de Koch sur Milieux au Sang de diverses Espèces.
Presse méd. 64 (1956), 910
19. Jensen, K.A.: Reinzüchtung und Typenbestimmung von Tuberkelbazillenstämmen.
Zbl. Bakt. I. Orig. 125 (1932), 222
20. Koch, R.: zitiert nach Gottsacker, E.
21. Lebek, G.: Die Brauchbarkeit des Wagener'schen Bromkresolpurpurnährbodens für die Typenbestimmung des Mycobact. tuberculosis.
Zbl. Bakt. I. Orig. 161 (1954), 324
22. Löwenstein, E.: Die Züchtung der Tuberkelbazillen aus dem strömenden Blute.
Zbl. Bakt. I. Orig. 120 (1931), 127
23. Melvin, I., G.C. Klein, W. Jones and M. M. Cummings: An Evaluation of Media for Diagnostic Cultures of Tubercle Bacilli.
Am. Rev. Tbc. 63 (1951), 459
24. Meyn, A.: Nachweis und Typendifferenzierung der Tuberkelbakterien.
BMTW 1941, 607

25. Mitscherlich, E.: Die Differenzierung frisch isolierter Stämme von *Mycobacterium tuberculosis hominis* und *bovis* im Kultur- und Kaninchenversuch. *Zschr. f. Hyg.* 134 (1952), 375
26. Pryce, D. M.: Sputum Film Cultures of Tubercle Bacilli: A Method for the Early Observation of Growth. *J. Path. Bact.* 53 (1941), 327
27. Reichert, F.: Über eine zweckmäßige Nährbodenkombination zur kulturellen Diagnostik des Tuberkelbacillus. *Zbl. Bakt. I. Orig.* 156 (1950/51), 451
28. Rolle, M.: Mikrobiologie und allgemeine Seuchenlehre, Stuttgart 1949
29. Sick, K.: Über die klinische Verwendung von Blutnährböden, ihren Einfluß auf Immunitätsreaktionen und über das Verhalten der Bakterien (speziell der Tuberkelbazillen) zum Hämoglobin. *Zbl. Bakt. I. Orig.* 64 (1912), 111
30. Söntgen, K.: Malachitgrün-Einährboden zum Nachweis von Tuberkelbakterien. *DTW* 1930, 263
31. Tarshis, M. S.: Blood Mediums for Cultivation of *Mycobacterium tuberculosis*. *Am. J. Clin. Path.* 23 (1953), 661
32. Tarshis, M. S. and S. S. Elberg: Enumeration of viable Tubercle Bacilli. *Am. Rev. Tbc.* 74 (1956), 84
33. Tarshis, M. S. and A. W. Frisch: Blood Media for the Cultivation of *Mycobacterium tuberculosis*. *Am. J. Clin. Path.* 21 (1951), 101
34. Dieselben: Blood Media for Determination of Sensitivity of *Mycobacterium tuberculosis* to Streptomycin. *Am. J. Clin. Path.* 21 (1951), 729
35. Ullrich, K.: Vorlesung über spezielle Therapie infektiöser Prozesse. München 1957

36. Wagener, K., W. Thiel und
L. Hensel: Das Kletterphänomen, ein kulturelles Art-
und Typenmerkmal der Tuberkelbakterien.
Zbl. f. Bakt. I. Orig. 167, 291
37. Wolters, K.L. und
H. Dehmel: Zur Züchtung und Differenzierung der
Tuberkelbazillen.
Zbl. f. Bakt. I. Orig. 117 (1930), 412
38. Wright, Sir A.E.: New Methods for the Study of the Pathology
and Treatment of tuberculosis Disease.
Lancet 1924, I, 218

Am Schlusse meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. A. Meyn für die Überlassung des Themas meiner Arbeit und die Möglichkeit ihrer Anfertigung im Tierhygienischen Institut zu danken.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Konservator Dr. Theodor Schließer für seinen Rat und seine Hilfe bei der Korrektur der Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 15. Juni 1934 wurde ich als Sohn des kaufmännischen Angestellten Arnold Buschmann und seiner Ehefrau Mary, geb. Irschick, in Riga (Baltikum) geboren. Im Jahre 1939 siedelten wir nach Bielitz (Oberschlesien) über, wo ich die Grundschule besuchte. 1945 flohen wir nach Bayern. In Kulmbach (Oberfranken) besuchte ich die Oberrealschule und erhielt im Jahre 1952 das Reifezeugnis. Im Sommer 1953 begann ich das Studium der Chemie an der Philosophisch-theologischen Hochschule Regensburg. Im Winter 1953/54 wechselte ich an die Tierärztliche Fakultät der Universität München über. Im Sommer 1955 legte ich das Physikum ab und erhielt im Dezember 1956 ein Doppelstudium der Tiermedizin und Biologie genehmigt. Im August 1958 bestand ich die tierärztliche Prüfung in München.

